

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Thalliumbestimmung im Urin durch Atom-Absorptions-Spektroskopie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Martin Kalteis
aus Hindlberg

1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546217_0061

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. H.-B. Wuermeling

Thalliumbestimmung im Urin durch Atom-Absorptions-Spektroskopie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Martin Kalteis
aus Hindlberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 25.06.1984

INHALTSVERZEICHNIS

=====

A. <u>Einleitung</u>	Seite 4
B. <u>Allgemeines über Vorkommen, Pharmakologie, Toxikologie und Nachweismethoden von Thallium</u>	5
I. <u>Vorkommen und Verwendung von Thallium</u>	5
a) Vorkommen	5
b) Verwendung	7
II. <u>Pharmakologie und Toxikologie des Thalliums</u>	8
a) Giftigkeit von Thallium und seine Wirkungsweise	8
b) Aufnahme des Thalliums und seine Verteilung	9
c) Ausscheidung des Thalliums	10
d) Krankheitsbild der Thalliumvergiftung	13
e) Therapie der Thalliumvergiftungen	16
III. <u>Analytische Methoden zur Bestimmung von Thallium</u>	17
a) Kolorimetrische Methode	17
b) Neutronenaktivierung	18
c) Spektrographie	18
d) Polarographie	18
e) Atomabsorption	19
1. Physik der Atom-Absorptions- Spektroskopie	19
2. Prinzip des Atom-Absorptions- Spektrophotometers	20

C. <u>Problemstellung</u>	23
D. <u>Arbeitsvorschrift nach C.D. WALL</u>	23
E. <u>Eigene Messungen</u>	25
I. <u>Reagenzien und Geräteparameter</u>	25
II. <u>Analytische Verfahren</u>	26
a) Vergleich mit Eichlösungen	26
b) Additionsmethode	26
III. <u>Herstellung der Gebrauchseichlösungen</u>	27
a) Erstellung der Eichkurve für wässrige Tl-Lösungen	28
b) Berechnung des Analyseergebnisses	31
c) Berechnung der Regressionsgeraden und deren Steigung aus den gegebe- nen Wertepaaren	32
d) Streuung in der Serie (Präzision)	33
IV. <u>Absorptionsmessungen mit veraschtem Urin</u>	34
a) Offene Veraschung	34
b) Geschlossene Veraschung nach BÜCHI	34
c) Erstellung der Eichkurve für thalliumhaltigen Urin	34
d) Berechnung der Regressionsgeraden und deren Steigung aus den gegebe- nen Wertepaaren	35
e) Bestimmung der Richtigkeit	37
f) Bestimmung der Nachweisgrenze	39

V. <u>Absorptionsmessungen mit unveraschtem</u> <u>Urin</u>	41
a) Bildung der Eichkurve für thallium- haltigen unveraschten Urin	41
b) Berechnung der Regressionsgeraden und der Steigung aus den gegebenen Wertepaaren	41
c) Vergleich der Meßwerte Urin verascht/ Urin unverascht	42
VI. <u>Anwendung der überprüften Meßmethode</u> <u>auf einen forensischen Fall</u>	44
a) Untersuchung von 3 Urinproben auf ihren Thalliumgehalt	44
b) Vergleich mit den Meßwerten anderer Nachweismethoden	
VII. <u>Überprüfung der Bestimmungsmethode nach</u> <u>C.D.WALL auf Fe III Querempfindlichkeit</u>	48
a) Zusammenstellung der höchsten Urin- eisenwerte bei verschiedenen Erkrankungen nach HÖCHERL (1975)	48
b) Ermittlung der Störeinflüsse durch Fe III - Ionen	50
F. <u>Anhang</u> Arbeitsvorschrift für den Probenaufschluß in Veraschungsgerät BÜCHI 445	52
G. <u>Diskussion</u>	
H. <u>Zusammenfassung</u>	
I. <u>Literaturverzeichnis</u>	

Thalliumbestimmung in Urin durch Atom-Absorptions-Spektroskopie

A. Einleitung

Das chemische Element Thallium gehört neben Cadmium, Quecksilber und Blei zu den giftigsten Schwermetallen. Im periodischen System der Elemente gehört es zur Gruppe IIIa zusammen mit Bor, Aluminium, Gallium und Indium. Das weiche, bläulich-weiße Metall tritt bevorzugt in einwertigen Thallverbindungen, daneben aber auch in dreiwertiger Form als Thallverbindungen auf.

Atomgewicht 204,4; Schmelzpunkt 303,5 °C; Siedepunkt 1460 °C; spez.Gewicht 11,85 g/cm³. (G.GRÄFE 1979)

Entdeckt wurde Thallium im Jahr 1861 von SIR WILLIAM CROOKES, der es in selenhaltigen Mineralien spektralanalytisch nachwies. (PROKOP 1976)

Erste Mitteilungen über toxische Wirkungen gehen auf LAMY (1863) zurück, der an sich selbst bei Laborarbeiten mit verschiedenen einwertigen Verbindungen des Metalls körperliche Mißempfindungen und Beschwerden beobachtete, die nach Abschluß dieser Untersuchungsreihen wieder verschwanden (G.MÖLLHOFF 1979). Das erste Opfer einer beruflichen Thalliumvergiftung war ein Chemiker, der 1865 Untersuchungen über die Salze des Thalliumsuperoxids durchführte und sich dabei eine tödlich verlaufende Thalliumvergiftung zuzog (EGEN B. 1955)

B. Allgemeines über Vorkommen, Pharmakologie, Toxikologie und Nachweismethoden von Thallium

I. Vorkommen und Verwendung von Thallium

a) Vorkommen

Thallium ist in Form seiner Verbindungen in der Natur weit verbreitet, obwohl es in verhältnismäßig geringen Mengen vorkommt. Im gesamten Erdaufbau kommt Thallium nur etwa zu 0,004 mg/kg vor. Seine Konzentration im Regenwasser beträgt 50 ng/l (PONSOLD 1967), in der Erdkruste 0,6 µg/g (KIEFFER 1971).

Thallium kommt vor allem in Zinkblenden und Pyriten vor, bei deren Verarbeitung es als Nebenprodukt gewonnen wird. Die derzeitige Weltjahresproduktion wird mit 20-25 t angegeben. Bemerkenswert ist, daß man Thallium auch in Meteoriten, Tektiten und sogar in Proben des von der Appollo 11-Besatzung mitgebrachten Mondgesteins gefunden hat.

Untersuchungen in neuerer Zeit zeigen, daß Thallium als regelmäßig vorhandenes Spurenelement in tierischen und pflanzlichen Organismen vorkommt. Vor allem in Chlorophyll ist es angereichert. Nachgewiesen wurde Thallium auch in Tabak (WEINIG u. ZINK 1967).

Diese Autoren fanden bei Nichtrauchern einen um ein Drittel niedrigeren Thalliumgehalt. Für den Menschen gelten die in der Tabelle 1 angegebenen Werte (GEILMANN W., K.BEYERMANN, K.-H.NEEB und R.NEEB 1960).



Tabelle 1: Thalliumgehalt einiger Organe des menschlichen Organismus

Untersuchungs- material	natürlicher	Tl-Gehalt nach Vergiftung	
	Tl-Gehalt in ng/g	leichter in ng/g	tödlicher in 0,1 mg-%
Haare	7 - 51	650	
Fingernägel/ Zehennägel	40 - 70	2400	10,0/6,0
Harn	2 - 5 ng/ 50ml	im mg- Bereich/1	4,6
Dickdarm			127,2
Blinddarm			107,2
Leber			14,6
Muskel			13,6
Blut/Gehirn/Fett			3,0/2,8/1,2
Niere			8,0
Oberschenkel- knochen			9,1

b) Verwendung

Für nicht legiertes Thallium sind in der Literatur keine Anwendungsmöglichkeiten angegeben. Größere Verwendung findet Thallium in Form seiner Verbindungen.

Thallium-I-acetat war lange Zeit als wirksames Enthaarungsmittel sowie Antihydrotikum in der Humanmedizin in Gebrauch.

Seit 1974 wird ²⁰¹Thalliumchlorid bei der Myocard-Szintigraphie angewandt (G.MÖLLHOFF 1979).

In der Industrie verwendet man Thalliumlegierungen als Anodenmaterial in der Elektrochemie, als Füllmittel für Spezialthermometer zum Messen niedriger Temperaturen (eutektische Legierung Quecksilber-Thallium), als Halbleitermaterial, zur Herstellung von Spezialgläsern, als Thalliumsalze zum Imprägnieren von Holz und Leder, als Grünfeuer für Schiffssignale, in Form von Thalliumjodid zur Herstellung von Metalldampflampen usw. Der Schwerpunkt des Thalliumverbrauches liegt eindeutig bei den Schädlingsbekämpfungsmitteln. Präparate zur Ratten- und Mäusevernichtung enthalten Thalliumsulfat, -acetat oder -carbonat und kommen in Form von Giftgetreide, (CFS-Giftweizen, Delicia, Styx, Zeliokörner) flüssigen und pastenförmigen Ködergiften (Brutal, Delicia Ratinol, Styx, Tharattin, Zelio) oder als Giftbrocken in den Handel (A.PONSOLD 1967, B.MUELLER 1975).

II. Pharmakologie und Toxikologie des Thallium

a) Giftigkeit von Thallium und seine Wirkungsweise

Thallium und seine Verbindungen gehören zu den stärksten Giften. In ihren Giftwirkungen sind sie dem Blei und Arsen ähnlich, aber ungleich toxischer.

Die wesentlichen Erfahrungen über die Toxizität des Thalliums beim Menschen stammen aus Untersuchungen über Vergiftungsfälle. Man kann davon ausgehen, daß die orale Aufnahme von 10 - 15 mg Tl/kg Körpergewicht, entsprechend etwa 1 g Tl im allgemeinen, innerhalb von wenigen Tagen zum Tode führt (RAUSCHKE 1967).

Als maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert) für lösliche Thalliumverbindungen wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft bereits vor mehreren Jahren $0,1 \text{ mg Tl/m}^3$ (berechnet als Thallium) festgesetzt.

Der Mechanismus der Giftwirkung ist noch nicht geklärt. Die Thalliumwirkung setzt sich wohl aus lokal, humoral, endokrin und zentral angreifenden Komponenten zusammen (RAUSCHKE 1967).

b) Aufnahme des Thalliums und seine Verteilung

Thalliumverbindungen werden gewöhnlich über den Magen-Darmtrakt aufgenommen. Chronische Intoxikationen beim Umgang mit Thallium und seinen Verbindungen in den gewerblichen Betrieben werden vielfach durch eine Aufnahme über die Lungen oder durch Hautkontakt verursacht (FORSTER B. 1979).

Oral aufgenommene, wasserlösliche Thalliumverbindungen werden zu einem hohen Anteil aus dem Magen-Darm-Kanal resorbiert und gelangen von dort aus in den Blutkreislauf. Ein Teil des resorbierten Thalliums wird über die Niere mit dem Urin wieder ausgeschieden, ein anderer, nicht unbedeutender Anteil gelangt über die Galle wiederum in den Darm und kann dort erneut resorbiert werden (enterohepatischer Kreislauf). Nach der Resorption erfolgt eine rasche Verteilung über den gesamten Organismus.

Die höchsten Konzentrationen finden sich in Muskeln, Herz, Niere, Schilddrüse, Pankreas, Parotis und Hoden. Niedrigere Werte findet man in Gehirn, Fett und Blut (RAUSCHKE 1963). Bei Schwangeren kann Thallium die Plazenta-Schranke überwinden, in den fetalen Blutkreislauf eintreten und dadurch den Embryo gefährden.

RAUSCHKE (1963) führte Experimente mit dem Ziel durch, über die Verteilung des Thalliums und den Schädigungs-ort neue Erkenntnisse zu gewinnen. Bei seinen Versuchen ließ sich 2 h nach Thalliumaufnahme nahezu die gesamte Menge des nachweisbaren Thalliums in den Organen nachweisen.

c) Ausscheidung des Thalliums

Die Ausscheidung des Thalliums erfolgt bevorzugt im Urin und Kot. Erste systematische Untersuchungen über die Thalliumausscheidung wurden von WEINIG und SCHMIDT (1962) durchgeführt (Abb.1). Die Halbwertszeit des Konzentrationsabfalls von Thallium im Urin beträgt etwa 10 Tage. Aus der Halbwertszeit und dem gesetzmäßigen Abfall der Thallium-Urinausscheidung, der einer abklingenden Exponentialfunktion folgt (Abb.2), läßt sich für viele Vergiftungen eine Ausscheidungsdauer von 2 - 3 Monaten errechnen, bis weniger als 10 µg Tl pro Liter Harn erreicht sind (MACHBERT 1971). Ebenso läßt sich bei subletaler Vergiftung die aufgenommene Giftmenge berechnen.

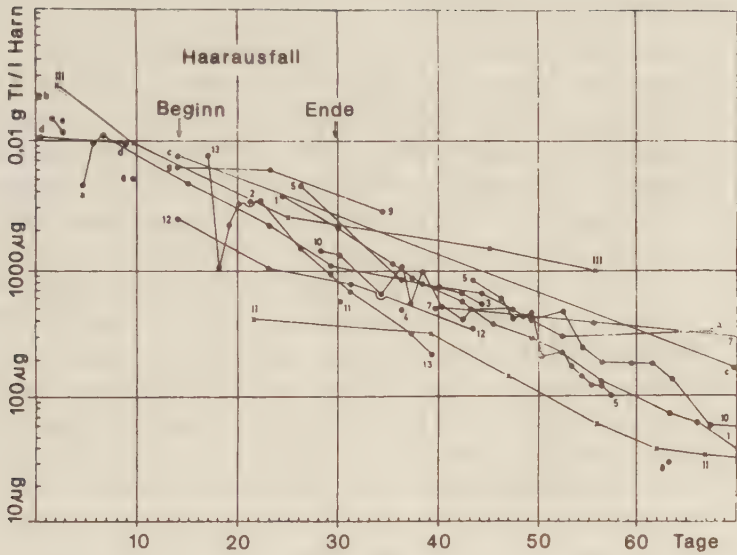


Abb.1.

Konzentrationsabfall des Thalliums im Harn bei
subletalen Vergiftungen (E.WEINIG, G.SCHMIDT 1962).

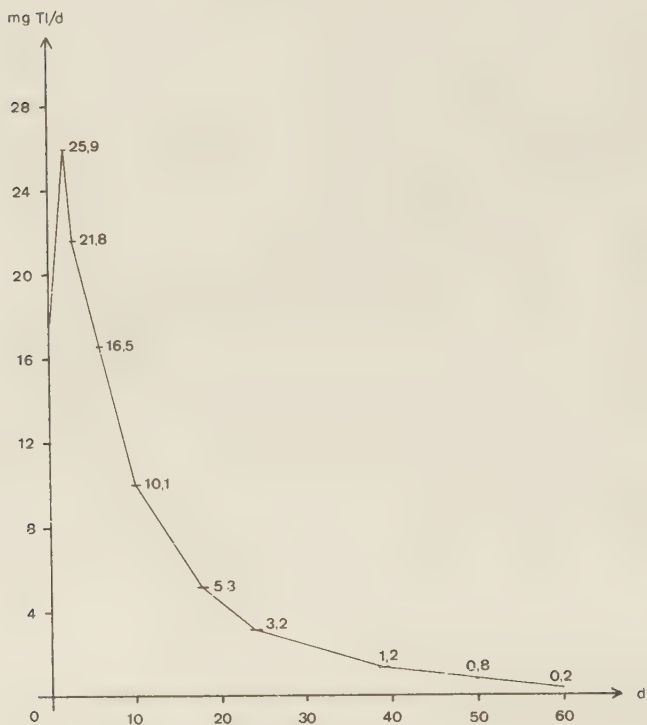


Abb.2.

Thalliumausscheidung im Harn des Pat. H. Th.. Die Zahlenwerte auf der Ordinate geben jeweils die innerhalb 24 Std. ausgeschiedenen Tl-Mengen an.

(W.WIRTH 1981)

d) Krankheitsbild der Thalliumvergiftung

Die *a k u t e* oder *s u b a k u t e* Vergiftung beginnt in der Regel nach 1 - 2 tägiger weitgehend symptomfreier Latenzzeit mit Brechreiz (Erbrechen), Leibschmerzen mit therapieresistenter Obstipation (Verstopfung) und Leibkrämpfen. Dazu kommen Zeichen einer toxischen Polyneuritis mit sensorischen Störungen in Form von "Kribbeln", "Ameisenlaufen" und teilweise extremer Berührungs- und Drucküberempfindlichkeit in den unteren Extremitäten, motorischen Ausfällen (z.B. durch Verlust der Sehnenreflexe) und Sehstörungen sowie zusätzlichen vegetativen Symptomen (Blutdrucksteigerung, Herzschlagbeschleunigung, Temperatursteigerung). Weitere allgemeine Symptome sind Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens, Schlaflosigkeit, Unruhe, Erregbarkeit, Koordinationstörungen, Verwirrheitszustände. Wenige Tage nach der Intoxikation wird eine beginnende Dunkelpigmentierung der Haarwurzeln beobachtet; nach 2 - 3 Wochen erfolgt zunehmender teilweiser oder totaler Haarausfall. Häufig werden auch ausgeprägte Hauttrockenheit sowie charakteristische weiße Querstreifen ("Lunulastreifen") an den Zehen- und Fingernägeln beobachtet (Abb.3).

Im Vordergrund der Frühsymptomatik der akuten oder subakuten Thalliumvergiftung stehen also Symptome von seiten des Nervensystems und der Muskulatur. Hinzu kommen Veränderungen bzw. Schädigungen der Haut und Hautanhangsorgane (Haarausfall).

Die Symptomatik der c h r o n i s c h e n Thalliumvergiftung unterscheidet sich von der der akuten oder subakuten Thalliumvergiftung durch die relativ lange symptomarme Latenzperiode (mehrere Wochen), die Häufigkeit von Sehstörungen bis hin zur Erblindung, unterschiedlich ausgeprägte Schmerz- und Schwächezustände in den Beinen ohne ausgeprägte Polyneuritis und häufig nur angedeuteten Haarausfall. Außerdem werden Magenanaazidität, Gehstörungen, endokrine Ausfälle, Resistenzschwäche gegenüber Infektionen, Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens, Appetitlosigkeit, Abmagerung, zerebrale Störungen mit Intelligenzdefekten und Verhaltensanomalien beobachtet (B.MUELLER 1975, MÖSCHLIN 1980, RAUSCHKE 1967, B.FORSTER 1979, G.GRÄFE 1979).

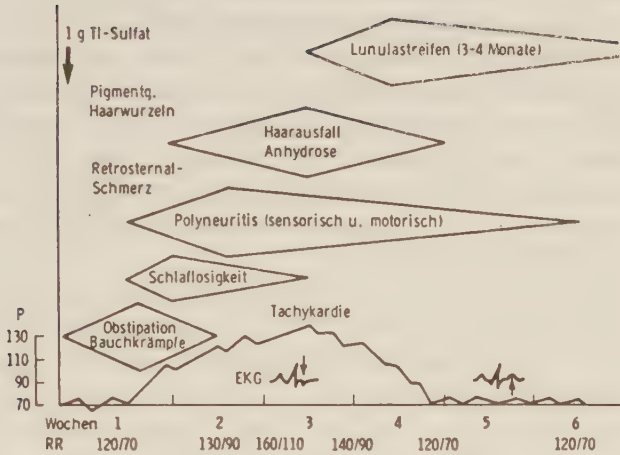


Abb.3.

Thalliumvergiftung: Zeitlicher Ablauf der wichtigsten Symptome (S.MÖSCHLIN 1980).

e) Therapie der Thalliumvergiftungen

Nur sehr leichte Thalliumintoxikationen klingen nach einigen Wochen ohne Behandlung ab.

Die Therapie muß möglichst rasch einsetzen, da einmal resorbiertes und an neurale Strukturen und andere Organe gebundenes Thallium nicht eliminiert werden kann (S.MÖSCHLIN 1980). Die Wirkung der Therapiemöglichkeiten besteht deshalb in der beschleunigten Ausscheidung noch nicht resorbierten Thalliums.

S.MÖSCHLIN 1980 empfiehlt zur Entgiftung folgende Maßnahmen:

- Magenspülung mit einer 1% igen Natriumjodid-Lösung oder Kochsalzlösung
- Entgiftung des Thalliums durch
 - a) Berlinerblau (Ferrihexacyanoferrat)
 - b) 1% ige Natriumjodid-Lösung
- Beschleunigung von Elimination und Ausscheidung mit
 - a) Hämo-perfusion
 - b) Hämodialyse
 - c) forcierter Diurese
- Bekämpfung der Obstipation
- Maßnahmen zur Behandlung der neurologischen Störungen und Ausfälle.

III. Analytische Methoden zur Bestimmung von Thallium

Noch vor wenigen Jahren war über viele, im menschlichen Körper vorkommende Spurenelemente so gut wie nichts bekannt. Erst mit der Verfügbarkeit von geeigneten Meßgeräten erwachte das Interesse an metallischen Elementen, die in Konzentrationen oft weit unter $1 \mu\text{g/ml}$ in Körperflüssigkeiten und Geweben vorkommen. Thallium wurde als Spurenelement mit Normalwerten von $0,38 \mu\text{g Tl/l}$ Urin bestimmt.

In der forensischen Medizin interessieren weniger die Normalgehalte, die sehr niedrig sind, als vielmehr die erhöhten Konzentrationen wie sie nach Vergiftungsfällen oder gewerblichen Expositionen vorkommen.

Als geeignete Meßmethoden bieten sich eine Reihe von Verfahren an, die sich hinsichtlich des Zeit- und Geräteaufwandes unterscheiden, und die geforderte Spezifität und Meßgenauigkeit in unterschiedlicher Weise erfüllen.

a) Kolorimetrische Methode

Bei der kolorimetrischen Bestimmung handelt es sich fast immer um Farbreaktionen, die Tl^{3+} mit bestimmten Farbstoffen eingeht. Gefärbte Komplexe bildet Thallium z.B. mit Dithizon, Thionalid, Rhodamin B und Brillantgrün. Es ist möglich damit Thalliummengen bis zu 200 ng/5ml Benzol-Extrakt mit den üblichen Photometern nachzuweisen (B. MOCK 1965).

b) Neutronenaktivierung

Mit der sehr aufwendigen Neutronenaktivierungsanalyse lassen sich noch geringste Mengen des Metalls nachweisen (SPECHT u. ROHNER 1961). Die durch einen Neutronenfluß künstlich hervorgerufene Radioaktivität des zu bestimmenden Metalls läßt sich im Zählrohr genau bestimmen und zu einem empfindlichen Nachweis ausnützen.

c) Spektrographie

G. GORONCY u. R. BERG (1933) berichten erstmals über die spektrographische Bestimmung von Thallium. Dabei werden die Atome der zu untersuchenden Substanz zur Strahlenemission angeregt. Aus der Lage der Spektrallinien können die Elemente qualitativ nachgewiesen werden. Über photoelektrische Messungen können quantitative Bestimmungen durchgeführt werden.

d) Polarographie

Mit Hilfe der polarographischen Methode, auf die WEINIG E. (1943/44) aufmerksam gemacht hat, läßt sich auch bei sehr geringer Materialmenge eine sichere Bestimmung durchführen. Dabei werden elektrolytische Vorgänge ausgenützt und aus der Gestalt der aufgezeichneten Stromspannungskurve die Art und Menge gewisser Bestandteile von Lösungen bestimmt.

e) Atomabsorption

Die Atom-Absorptions-Spektroskopie hat sich während der sechziger Jahre rasch zu einer universell einsetzbaren, hoch selektiven und empfindlichen Analysenmethode entwickelt, die heute in allen Sparten der Analytik Verwendung findet.

1. Physik der Atom-Absorptions-Spektroskopie

Das Phänomen der Lichtabsorption wurde schon Anfang des 18. Jahrhunderts untersucht.

LAMBERT fand 1760, daß die von einer planparallelen Schicht eines homogenen Mediums hindurchgelassene Lichtmenge abhängig ist von der Dicke d dieser Schicht und daß das Verhältnis der Intensität des durchgegangenen Lichtes I_D zu der Intensität des eingestrahnten Lichtes I_O von der Bestrahlungsstärke unabhängig ist.

$$I_D = I_O \cdot e^{-x' \cdot d}$$

Handelt es sich bei dem durchstrahlten Medium nicht um einen einheitlichen Stoff sondern um die Lösung eines absorbierenden Stoffes in einem nicht absorbierenden Medium, so ist der Absorptionskoeffizient der Konzentration c proportional.

$$x' = k' \cdot c$$

Das Gesetz von LAMBERT wird heute meist in der Form

$$E = \log I_0/I_D = k \cdot c \cdot d$$

verwendet. Es besagt, daß die Extinktion E zur durchlaufenen Schichtdicke und zur Konzentration des absorbierenden Stoffes proportional ist.

PLANK (1900) stellte schließlich das Gesetz der quantenhaften Absorption und Emission des Lichtes auf, nach dem ein Atom nur Licht eindeutig gegebener Wellenlänge (Frequenz) absorbieren, d.h. nur bestimmte Energiebeträge ϵ aufnehmen und auch wieder abgeben kann.

$$\epsilon = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda$$

Darin sind für jede Atomart besondere Werte von ϵ und ν charakteristisch.

Nach Aufnahme eines Energiequants ist das Atom in einen besonderen, energiereicheren Zustand übergegangen. Nach einer Verweilzeit von 10^{-9} bis 10^{-7} sec kann es diese Energie dann wieder ausstrahlen - als Resonanzfluoreszenz-Quant - und so in den Normalzustand zurückkehren.

In der Atom-Absorptions-Spektroskopie nützt man das Phänomen der Resonanzabsorption aus.

2. Prinzip des Atom-Absorption-Spektrophotometers

Von einer geeigneten Lichtquelle wird ein Emissionsspektrum des zu untersuchenden Elements erzeugt. Die Strahlung durchdringt den Brennerraum mit dem absorbierenden Medium, welches in

einer Zerstäuberammer vernebelt und im Brenngasstrom der Flamme zugeführt wird (Abb.4a). Die durch thermische Dissoziation aus den in der Probe vorhandenen Ionen oder Molekülen gebildeten Metallatome absorbieren entsprechend ihrer Konzentration einen bestimmten Anteil der ihnen zugeordneten Resonanzlinien (Abb.4b) und schwächen somit deren Intensität (Abb.4c).

Nach der spektralen Zerlegung des Lichtes im Monochromator wird durch den Austrittsspalt die Resonanzlinie ausgesondert und alle anderen Linien ausgeblendet (Abb.4d). Der Detektor registriert daher nur die Resonanzlinie, deren Schwächung durch die Probe schließlich zur Anzeige kommt (Abb.4e).

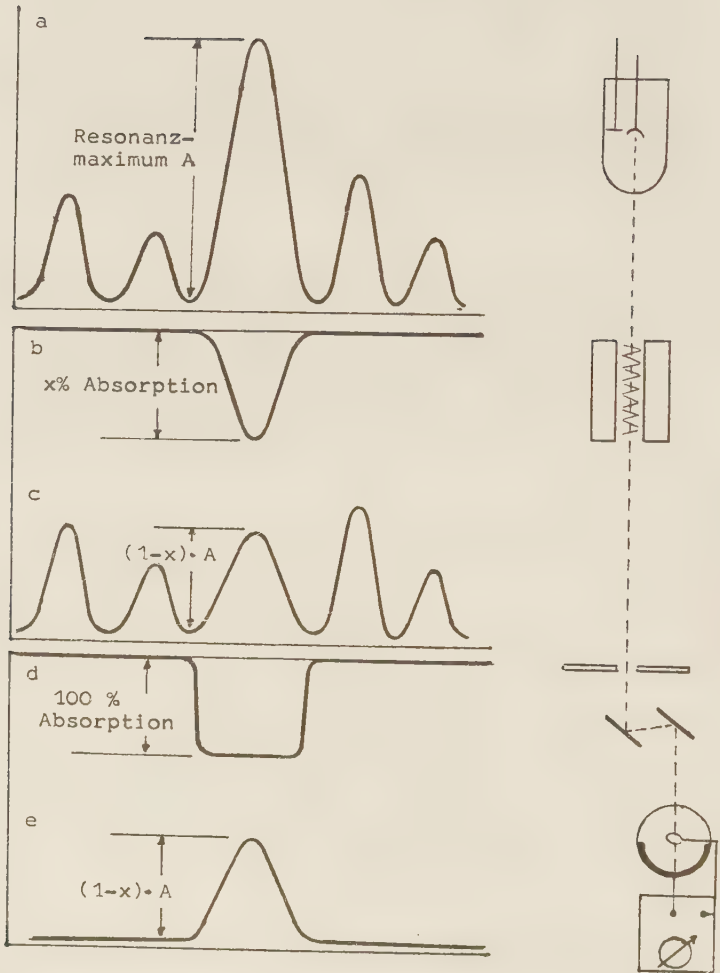


Abb.4.

Prinzip der Atom-Absorptions-Spektrophotometrie
(G.NONNENMACHER 1965)

C. Problemstellung

Methode und Apparatur zur quantitativen Bestimmung von Thallium in Urin mit Hilfe der Atom-Absorption-Spektrophotometrie werden anhand der Arbeitsvorschrift von C.D.WALL (1977) beschrieben. Der Anwendungsbereich, die Genauigkeit und die Nachweisgrenzen werden diskutiert und die Methode auf einen forensischen Fall angewandt.

Abweichend von der Arbeitsvorschrift von C.D.WALL wurde bei Urinproben die organische Matrix durch Veraschung zerstört.

D. Arbeitsvorschrift nach C.D. WALL

The Determination of Thallium in Urine by Atomic Absorption Spectroscopy and Emission Spectrography
Clinica Chimica Acta 76 (1977) 259-265

Atomabsorption:

C.D.WALL benutzte ein Perkin-Elmer Model 403 Zweistrahl-Atom-Absorption-Spektralphotometer, ausgestattet mit einer Thallium-Hohlkathodenlampe und einem 3-Schlitz "Boling" Brenner, angeschlossen an einen Perkin-Elmer Hitachi 165 pen recorder.

Geräteparameter:

Flamme	air/acetylene (60/40)
Gasdruck	8 psi
Luftdruck	30 psi
Wellenlänge	276,8 nm
Spalt	5 (entspricht 0,27 nm spektr. Spaltbreite)

Aus einer 1000 $\mu\text{g/ml}$ Thalliumstandardlösung wurden durch entsprechende Verdünnungen 0.5, 1.0, 1.5, und 2.0 $\mu\text{g/ml}$ Thalliumlösungen hergestellt.

Leerwert, Standard und Proben wurden durch direkte Aspiration in die Flamme gemessen, die Mittelwerte für jede Probe gebildet, eine Eichkurve erstellt und der Thalliumgehalt eines verdächtigen Urins bestimmt.

Der Varianzkoeffizient wurde mittels 12 Messungen je Probe bestimmt:

Konzentration:	Varianz:
5.0 $\mu\text{g/ml}$	0.2 %
1.0 $\mu\text{g/ml}$	1.6 %
0.5 $\mu\text{g/ml}$	2.0 %

Verdächtige Urinproben wurden mit 0.0, 0.5 und 1.0 $\mu\text{g/ml}$ Thallium aufgestockt und gemessen, ebenso wie die Standardlösungen von 0.5 - 2.0 $\mu\text{g/ml}$.

Die Ergebnisse ergaben eine hohe Präzision und einen Varianzkoeffizient kleiner 3 %.

Um den Einfluß von Matrixeffekten auf die Thalliumbestimmung in Urin zu untersuchen, wurden Standardlösungen obengenannter Konzentrationen mit thalliumfreiem Urin hergestellt und in analoger Weise analysiert.

C.D. WALL konnte damit zeigen, daß Matrixeffekte im Urin bei der Thalliumbestimmung durch Atomabsorption keine Rolle spielen.

E. Eigene Messungen

I. Reagenzien und Geräteparameter

Reagenzien zur Urinveraschung:

H_2SO_4 96 % suprapur (Fa.Merck)

HNO_3 65 % suprapur (Fa.Merck)

Aqua bidestillata

Standardlösungen:

Thallium 1000 $\mu\text{g/ml}$ H_2O bidest.

Eisen III 1000 $\mu\text{g/ml}$ H_2O bidest..

Geräte:

Veraschungsapparatur BÜCHI 445

BECKMAN Atom-Absorption-Spektralphotometer

Geräteparameter für Atom-Absorption-Spektroskopie:

Flamme	Luft/Azetylen
Gasdruck	0.45 bar
Luftdruck	1.8 bar
Wellenlänge	276.79 nm
Spalt	5 (entspricht 0.27 nm spektr. Spaltbreite)
Lampenstrom	10 mV
Dynodenspannung	480 V
span	300, 0.2 A entspricht Ver- stärkungsfaktor 15

II. Analytische Verfahren

a) Vergleich mit Eichlösungen

Die Atom-Absorption-Spektroskopie ist eine Relativmethode, die keinen Absolutwert liefert, sondern nur durch Vergleiche mit Proben bekannten Gehaltes ein quantitatives Ergebnis bringt.

Die einfachste und schnellste Analysenmethode ist der direkte Vergleich mit Eichlösungen bekannten Gehaltes. Man stellt sich dazu Eichlösungen bekannten Metallgehaltes (durch Verdünnen aus einer Stammlösung) her. Die gemessenen Extinktionswerte werden in einer Eichkurve gegen die entsprechenden Konzentrationen aufgetragen.

Nachdem man die Absorption einer verdächtigen Probe bestimmt hat, kann man die zugehörige Thalliumkonzentration von der Eichkurve ablesen.

b) Additionsmethode

Wenn kein thalliumfreier Urin verfügbar ist, wird die sogenannte Additionsmethode angewandt (Abb.5). Der unbekannten Probenlösung werden gleiche Mengen Eichlösungen verschiedener Konzentrationen zuge-mischt. Eine Probe wird mit dem Leerwert versetzt. Trägt man die von den einzelnen Proben erhaltenen Extinktionswerte gegen die zugesetzte Konzentration auf, so erhält man eine Eichkurve, die nicht durch den Nullpunkt geht. Der Schnittpunkt der Eichkurve mit der Ordinate entspricht der Extinktion der Probenlösung. Der Gehalt x des zu untersuchenden Elements läßt sich durch Extrapolieren der Eichkurve durch die Konzentrationsachse erhalten (R.EDIGER 1973).

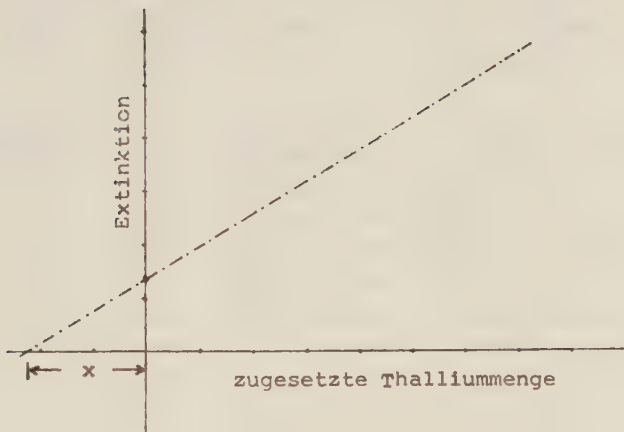


Abb.5.
Additionsmethode

III. Herstellung der Gebrauchseichlösungen

Verschiedene Mengen an Stammlösung ($1000 \mu\text{gTl/ml H}_2\text{O}$) werden auf ein bestimmtes Volumen (20 ml) mit Aqua dest bzw. Urin aufgestockt und man erhält somit die einzelnen Konzentrationen der wässrigen bzw. Urin-gebrauchseichlösungen (Tabelle 2).

Tabelle 2: Herstellung der Gebrauchseichlösungen

Konzentration	Menge Stammlösung		ad 20 ml Aqua
d. Gebrauchseichl.	Konz.: 1000 µg/ml		dest o. Urin
10 µg/ml	200 µl	"	ad 20 ml " "
5 µg/ml	100 µl	"	ad 20 ml " "
2 µg/ml	40 µl	"	ad 20 ml " "
1 µg/ml	20 µl	"	ad 20 ml " "
0,5 µg/ml	10 µl	"	ad 20 ml " "
0,1 µg/ml	2 µl	"	ad 20 ml " "

a) Erstellung der Eichkurve für wässrige Tl-Lösungen

Zur Erstellung einer Eichkurve für wässrige Thalliumlösungen wurden die Gebrauchseichlösungen mit den Konz. von 0,1 µg/ml - 10 µg/ml verwendet.

Vor jeder Messung wurde das Spektralphotometer mit Aqua dest. auf Null geeicht.

Durch direktes Einsprühen von je 2 ml Eichlösung in die Flamme erhielten wir bei einer Integrationszeit von 8 sec sechs Extinktionswerte, aus denen dann der Mittelwert gebildet wurde (Tabelle 3).

Die gemessenen Absorptionswerte (%A) werden bereits im Meßgerät elektronisch logarithmiert und die Extinktion E auf einem Digital-Voltmeter angezeigt, wobei die dritte Stelle nach dem Komma kein gesicherter Wert ist, sondern durch Mitteln errechnet wurde.

Tabelle 3: Gemittelte Extinktionswerte zur graphischen Darstellung der Eichkurve für Thallium in wässriger Lösung

	Konzentrationen					
	10 µg/ml	5µg/ml	2µg/ml	1µg/ml	0.5µg/ml	0.1µg/ml
Extinktionen	1,155	0,572	0,229	0,106	0,062	0,011
	1,370	0,699	0,265	0,138	0,072	0,012
	1,341	0,675	0,256	0,120	0,051	0,011
	1,269	0,646	0,258	0,128	0,066	0,014
	1,322	0,653	0,247	0,119	0,062	0,013
	1,287	0,674				
	1,372	0,643				
$\bar{E}$:	1,302	0,652	0,251	0,122	0,063	0,012

Aus den Mittelwerten von mindestens 5 Ansätzen der Gebrauchseichlösungen wurden wieder die Mittelwerte gebildet und zur Prüfung der Linearität der Eichkurve gegen die Konzentration graphisch aufgetragen (Abb.6).

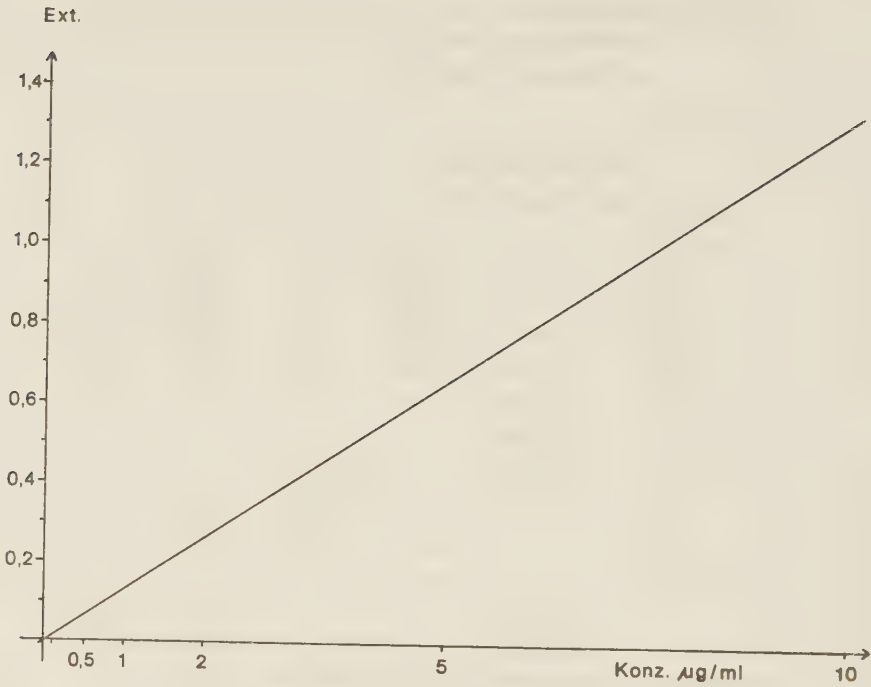


Abb.6.

Graphische Darstellung der Eichkurve für wässrige Thalliumlösungen

Ergebnis:

Die erhaltene Kurve ist linear, gehorcht also dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz. Die Bestimmung der unbekannten Konzentration x einer Probe aus ihrer Extinktion erfolgt durch lineares Interpolieren.

b) Berechnung des Analysenergebnisses

Im Bereich von $0.1 \mu\text{g/ml}$ - $10 \mu\text{g/ml}$ ist die Eichfunktion linear.

Lineare Geradengleichung $E = f(c)$

$$E = E - E_0$$

mit $E_0 = 0$, da vor jeder
Messung mit Aqua dest.
auf Null geeicht.

Die Gleichung stellt die Beziehung zwischen der gemessenen Extinktion E und der Konzentration c des zu bestimmenden Elements dar.

Nach DE GALAN (1970) ist auf jedem Punkt dieser Kurve die Empfindlichkeit k definiert als

$$k = \frac{dE}{dc}$$

Allgemein hängt daher die Empfindlichkeit von der jeweiligen Konzentration des untersuchten Elements ab.

Falls die Eichkurve linear ist und dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz gehorcht, ist die Empfindlichkeit unabhängig von der Konzentration c und identisch mit der Steigung dieser Geraden.

c) Berechnung der Regressionsgeraden und deren
Steigung aus den gegebenen Wertepaaren:

Konz.:	0,1	0,5	1	2	5	10
(µg/ml)						
Extinkt.:	0,012	0,063	0,122	0,251	0,652	1,302

Steigung $k = 0,130$

$$E_0 = -0,0049$$

$$E_0 \approx 0$$

daraus folgt für die Regressionsgerade

$$\underline{\underline{E = 0,13 \cdot C}}$$

Die reziproke Empfindlichkeit $k' = 1/k$ ergibt sich zu

$$k' = \frac{dc}{E}$$

$$k' = 7,65 \quad \text{reziproker Eichfaktor}$$

Daraus folgt für die Konzentrationsberechnung:

$$c = E \cdot k'$$

$$c = E \cdot k' \quad \text{mit } E_0 = 0$$

Die Berechnungen wurden am Institut für Medizinische-
Statistik u. Dokumentation der Universität Erlangen-
Nürnberg durchgeführt.

d) Streuung in der Serie (Präzision)

Die Präzision eines analytischen Verfahrens wird charakterisiert durch die Streuung bei wiederholter Messung am gleichen Meßgut. Die Präzision in der Serie ergibt sich dabei aus einer Mehrfachbestimmung aus ein und derselben Probe.

Von Gebrauchseichlösungen Urin mit 10 $\mu\text{g/ml}$ und 0,5 $\mu\text{g/ml}$ Thalliumgehalt wurden je 6 dE - Werte bestimmt (Tabelle 4) und die Streuung in der Serie berechnet. Jeder der 6 dE - Werte stellt wieder einen Mittelwert aus 6 Messungen bei einer Integrationszeit von 8 sec dar.

Tabelle 4: Extinktionswerte zur Präzisionsbestimmung

10 $\mu\text{g/ml}$	E_1	1,418	$E = 1,378$
	E_2	1,343	$s = 0,026$
	E_3	1,357	$v = 1,94 \%$
	E_4	1,384	
	E_5	1,372	
	E_6	1,393	
0,5 $\mu\text{g/ml}$	E_1	0,188	$E = 0,173$
	E_2	0,172	$s = 0,010$
	E_3	0,177	$v = 5,65 \%$
	E_4	0,172	
	E_5	0,170	
	E_6	0,158	

Um Veränderungen an der Basislinie auszugleichen, wurde zwischen den Proben jeweils auf den Leerwert geeicht.

IV. Absorptionsmessungen mit veraschtem Urin

Um störende Matrixeffekte auszuschließen, wurden abweichend von der Arbeitsvorschrift von C.D.WALL die verwendeten Urinproben verascht.

Mit sieben Ansätzen je Konzentration, wovon drei offen und vier geschlossen nach BÜCHI verascht wurden, um die organische Matrix zu zerstören, wurden die Messungen durchgeführt.

a) Offene Veraschung

Um die organische Matrix zu zerstören, wird das im Volumen bekannte Untersuchungsmaterial (20 ml Urin) im Kjeldahlkolben mit 4 ml konz. Schwefelsäure versetzt und zum Sieden gebracht. Dann gibt man mit einer Pipette Wasserstoffperoxid portionsweise bis zur vollständigen Entfärbung der Lösung hinzu.

b) Geschlossene Veraschung nach BÜCHI

Arbeitsvorschrift für den Probenaufschluß im Veraschungsgerät BÜCHI 445 siehe Anhang!

c) Erstellung der Eichkurve für thalliumhaltigen Urin

Bekannte Mengen aus einer thalliumhaltigen Stammlösung wurden mit Urin auf ein Volumen von 20 ml aufgestockt. (Analog zur Herstellung der Gebrauchseichlösungen)

Je 2 ml thalliumhaltiger Urin mit den eingestellten Konzentrationen von 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 und

10.0 µg/ml reichten bei direktem Einsprühen in die Flamme und einer Integrationszeit von 8 sec, um wieder sechs Extinktionswerte abzulesen (Tabelle 6). Vor jedem Probenwechsel wurde das Spektralphotometer wieder mit Aqua dest. auf den Nullpunkt geeicht.

Tabelle 6: Extinktionswerte von veraschtem, thalliumhaltigen Urin zur Erstellung einer Eichkurve

		Konzentrationen					
		10µg/ml	5µg/ml	2µg/ml	1µg/ml	0.5µg/ml	0.1µg/ml
Extinktionen	1,378	0,736	0,343	0,181	0,137	0,096	
	1,355	0,740	0,367	0,187	0,146	0,097	
	1,388	0,747	0,346	0,194	0,142	0,084	
	1,366	0,772	0,340	0,193	0,153	0,092	
	1,390	0,718	0,355	0,238	0,138	0,086	
	1,386	0,714	0,375	0,236	0,137	0,097	
	1,385	0,718	0,329	0,232	0,145	0,093	
	$\bar{E}$:	1,387	0,735	0,351	0,209	0,140	0,092

d) Berechnung der Regressionsgeraden und deren Steigung aus den gegebenen Wertepaaren

Steigung $k = 0,1300$

reziproker Eichfaktor $k' = 1/k = 7,69$

Ordinatenschnittpunkt $E_0 = 0,081$

daraus folgt für die Regressionsgerade die Gleichung

$$E = 0,13 c + 0,081$$

Die Konzentration c läßt sich bei gemessener Extinktion durch die Gleichung

$$c = (E - 0,081) \cdot 7,69$$

bestimmen.

Die graphische Darstellung der Eichkurve mit veraschtem Urin ist wieder linear, parallel zur Eichkurve für wässrige Lösungen mit um den Betrag 0,081 erhöhten Extinktionswerten (Abb.7).

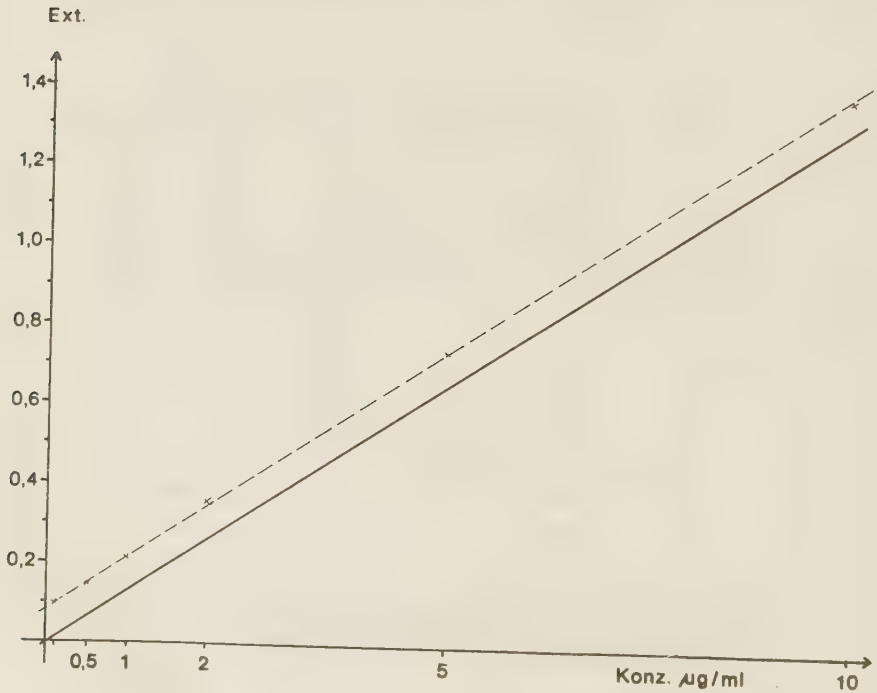


Abb.7.

Graphische Darstellung der Eichkurve für wässrige Thalliumlösungen und der Eichkurve für thalliumhaltigen, veraschten Urin

Der Betrag 0,081 stimmt mit der durchschnittlichen Extinktion $E = 0,078$ des Leerwerts von veraschtem Urin (gemessen bei der Bestimmung der Nachweisgrenze) gut überein.

Da der Thalliumgehalt in Urin bei Gesunden im Nanogramm-bereich liegt (0,07 - 1,15 ng/ml angegeben von WEINIG u. ZINK (1967)) lassen die erhöhten Extinktionswerte auf störende, anorganische Matrixeffekte schließen.

e) Bestimmung der Richtigkeit

Die Richtigkeit einer Methode ist durch die Abweichung des Meßwertes vom wahren Wert definiert. Da der wahre Wert in biologischem Material im allgemeinen nicht bestimmt werden kann, wird die Richtigkeit zumeist durch den Zusatz von Standardsubstanzen zu der zu analysierenden Probe ermittelt.

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate werden die Extinktionswerte von veraschtem, thalliumhaltigen Urin mit den Extinktionswerten der wässerigen Eichkurve verglichen (Tabelle 7).

Die Werte der Urinkurve mußten um den Leerwert von veraschtem Urin nach unten korrigiert werden. Aus der Differenz zwischen korrigierten Urinwerten (Ext. korr. Urin) und den Extinktionswerten der wässerigen Eichkurve (Ext. Eichk. H_2O) wurde die prozentuale Abweichung berechnet.

Aus dem Mittelwert der prozentualen Abweichungen ($\overline{\text{Diff}(\%)}$) läßt sich die Richtigkeit in % errechnen.

Tabelle 7: Vergleich der Extinktionswerte zur Bestimmung der Richtigkeit

Konz.: ($\mu\text{g/ml}$)	0,1	0,5	1,0	2,0	5,0	10
Ext.: (Urin)	0,092	0,140	0,209	0,351	0,753	1,378
Ext.korr.: (Urin)	0,014	0,062	0,131	0,273	0,657	1,300
Ext.: (Eichk. H_2O)	0,012	0,063	0,122	0,251	0,652	1,302
Diff.:	0,002	0,001	0,009	0,022	0,005	0,002
Diff.(%):	16,6	1,58	7,37	8,76	0,76	0,15
☞ Konz.: ($\mu\text{g/ml}$)	0,116	0,492	1,074	2,175	5,038	9,985

$$\overline{\text{Diff}(\%)} = 5,87$$

$$\Rightarrow \text{Richtigkeit } 94,13 \%$$

Die Konzentrationswerte wurden rechnerisch durch die Gleichung $c = (E - 0,081) \cdot 7,69$ (s.S. 36) ermittelt.

f) Bestimmung der Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze X^* ist definiert als diejenige kleinste Konzentration (in $\mu\text{g/ml}$) an dem zu bestimmenden Element, die noch mit 99,86 % Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden kann. Dies ist gleichbedeutend mit der Konzentration, die ein Signal von der dreifachen Größe der Standardabweichung s des Leerwerts ergibt.

Zur Ermittlung der Standardabweichung wurden 6 Ansätze von reinem Urin verascht (Veraschungsvorschrift siehe Anhang!) und aus je 6 gemessenen Extinktionswerten der Mittelwert gebildet. Über die 6 Probenextinktionen wurde wieder der Mittelwert gebildet und die Standardabweichung berechnet. Ebenso wurde die Standardabweichung von unveraschtem Urin ermittelt (Tabelle 5)

Tabelle 5: Extinktionen und Standardabweichungen von veraschtem und unveraschtem Urin

Extinktionen

Leerwert Urin verascht

E_{L1} 0,077

E_{L2} 0,084

E_{L3} 0,078

E_{L4} 0,076

E_{L5} 0,079

E_{L6} 0,076

$\bar{E}_L$ 0,078

$s = 3,0 \cdot 10^{-3}$

Leerwert Urin unverascht

E_{L1} 0,086

E_{L2} 0,079

E_{L3} 0,078

E_{L4} 0,080

E_{L5} 0,082

E_{L6} 0,080

$\bar{E}_L$ 0,081

$s = 2,9 \cdot 10^{-3}$

Aus den Standardabweichungen s lassen sich die Nachweisgrenzen $0,087 \mu\text{g/ml}$ (verascht) und $0,09 \mu\text{g/ml}$ (unverascht) errechnen ($3s + \bar{E}_L$). Voraussetzungen für diese niedrigen Nachweisgrenzen sind konstante Arbeitsbedingungen für die Erstellung der Urineichkurve, sowie konstante Matrixgrößen wie sie nur in "Poolharn" zur Verfügung stehen.

Da die Extinktionswerte für die Eichkurve von der Lampenjustierung, Einbrenndauer des Brenners, Brennersverschmutzung, Netzschwankungen usw. abhängig sind, müßte für jede einzelne Probenanalyse eine Poolharneichkurve mitgeführt werden.

Verwendet man zur Berechnung der Urinalysen eine wässrige Thalliumeichkurve, erhöht sich die Nachweisgrenze bedingt durch die Matrixeffekte des Urins.

Die unteren Nachweisgrenzen lassen sich rechnerisch mit den Formeln auf Seite 32 bestimmen.

In Abb.8 lassen sich die unteren Nachweisgrenzen auf den Thalliumeichkurven ablesen.

Bei Vorliegen einer Eichkurve für wässrige Thalliumlösungen entsprechen dem Extinktionswert bei Messungen mit veraschtem Urin $\bar{E}_v = 0,078$
eine Nachweisgrenze $X_v^* = 0,56 \mu\text{g/ml}$
und dem Extinktionswert bei Messungen mit unveraschtem Urin $\bar{E}_{uv} = 0,081$
eine Nachweisgrenze $X_{uv}^* = 0,58 \mu\text{g/ml}$.

V. Absorptionsmessungen mit unveraschtem Urin

a) Bildung der Eichkurve für thalliumhaltigen, unveraschten Urin

Je 2 ml von dem, mit den bekannten Thalliummengen versetzten Tagesurin, wurden ohne jeden Aufschluß direkt in die Flamme vernebelt und die gemessenen Extinktionen aufgezeichnet (Tabelle 8).

Aus den gemittelten Extinktionen von vier verschiedenen Ansätzen konnte wieder eine lineare Eichkurve dargestellt werden, deren Einzelwerte um durchschnittlich 4,38 % über den Werten der veraschten Proben lagen (Abb.8).

Tabelle 8: Extinktionswerte von unveraschtem, thalliumhaltigen Urin

Konz.:	0,1µg/ml	0,5µg/ml	1µg/ml	2µg/ml	5µg/ml	10µg/ml
Extinktionen	0,073	0,133	0,202	0,343	0,773	1,457
	0,085	0,148	0,210	0,351	0,778	1,436
	0,087	0,141	0,216	0,356	0,802	1,458
	0,087	0,150	0,227	0,374	0,793	1,457
$\bar{E}$:	0,084	0,142	0,214	0,356	0,786	1,452

b) Berechnung der Regressionsgeraden und der Steigung aus den gegebenen Wertepaaren

Steigung	$k = 0,184$
reziproker Eichfaktor	$k' = 1/k = 7,22$
Ordinatenabschnitt	$E_0 = 0,076$

Gleichung der Regressions-
geraden

$$E = 0,184 c + 0,076$$

Konzentrations-

bestimmungsgleichung

$$c = (E - E_0) \cdot k'$$

$$c = (E - 0,076) \cdot 7,22$$

c) Vergleich der Meßwerte Urin verascht/Urin unverascht

Den erhaltenen Extinktionswerten E_v von veraschtem Urin wurden die Extinktionswerte E_{uv} von unveraschtem Urin gegenübergestellt und die Differenzen in % errechnet (Tabelle 9).

Der Mittelwert der Differenzen ($\overline{\text{Diff.(\%)}}$) beträgt 4,38 % und läßt bei der Messung mit unveraschtem Urin um 4,38 % erhöhte Extinktionswerte erwarten.

Tabelle 9: Vergleich der Extinktionswerte von veraschtem und unveraschtem Urin

Konzentrationen						
	0,1µg/ml	0,5µg/ml	1µg/ml	2µg/ml	5µg/ml	10µg/ml
E_v	0,092	0,140	0,209	0,351	0,735	1,378
E_{uv}	0,084	0,142	0,214	0,356	0,786	1,452
Diff:	-0,008	+0,002	+0,005	+0,005	+0,051	+0,074
(%)	-8,70%	+1,43%	+2,40%	+1,42%	+6,94%	+5,37%

$$\overline{\text{Diff.(\%)}} = 4,38 \%$$

Diff.(%) ist die durchschnittliche Differenz der gemessenen Extinktionen in Prozent.

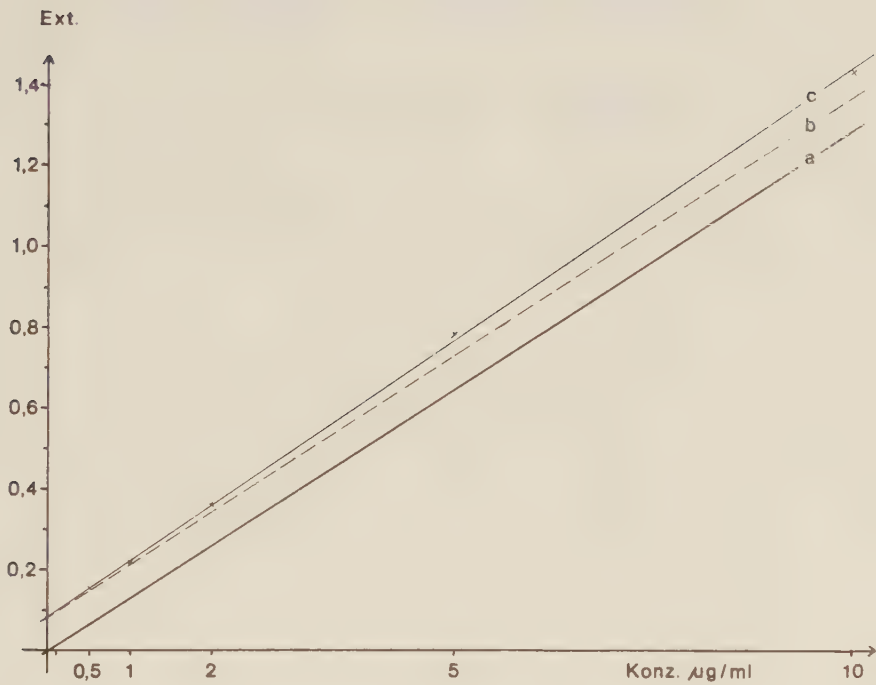


Abb.8.

Graphische Darstellung der Eichkurven für

a) wässrige Thalliumlösungen

b) thalliumhaltigen, veraschen Urin

c) thalliumhaltigen, unveraschen Urin

VI. Anwendung der überprüften Meßmethode auf einen forensischen Fall

a) Untersuchung von 3 Urinproben auf ihren Thalliumgehalt

Drei Urinproben von drei aufeinanderfolgenden Tagen eines Vergiftungsfalles aus dem Jahre 1978 wurden mittels der Atom-Absorption-Spektroskopie auf ihren Thalliumgehalt untersucht (Tabelle 10).

Von jedem Tagesurin wurde sowohl eine veraschte als auch eine unveraschte Probe gemessen.

Aus den Extinktionen wurde der Mittelwert gebildet und auf der Eichkurve der zugehörige Konzentrationswert abgelesen (Abb.9).

Die mit dem Eichfaktor errechneten Konzentrationswerte bestätigen die abgelesenen Ergebnisse.

Tabelle 10: Extinktionen und Tl-Gehalt von Urinproben aus einem Vergiftungsfall

1.Tag:	Probe 1	Probe 2	Probe 3
	verascht		unverascht
	Ext.:	Ext.:	Ext.:
	1,537	1,549	1,681
	1,552	1,568	1,676
	1,550	1,552	1,684
	1,541	1,563	1,688
	$\bar{E}: 1,551$		$\bar{E}: 1,682$
	<u>$c = 11,3 \mu\text{g/ml}$</u>		<u>$c = 11,59 \mu\text{g/ml}$</u>

2.Tag:	Probe 1	Probe 2	Probe 3
	verascht		unverascht
	Ext.:	Ext.:	Ext.:
	0,627	0,638	0,666
	0,638	0,648	0,675
	0,619	0,661	0,680
	0,616	0,652	0,680
	$\bar{E}: 0,638$		$\bar{E}: 0,675$
	<u>$c = 4,28 \mu\text{g/ml}$</u>		<u>$c = 4,32 \mu\text{g/ml}$</u>

3.Tag:	Probe 1	Probe 2	Probe 3
	verascht		unverascht
	Ext.:	Ext.:	Ext.:
	0,479	0,486	0,499
	0,493	0,478	0,483
	0,487	0,485	0,498
	0,485	0,480	0,492
	$\bar{E}: 0,484$		$\bar{E}: 0,493$
	<u>$c = 3,09 \mu\text{g/ml}$</u>		<u>$c = 3,01 \mu\text{g/ml}$</u>

b) Vergleich mit den Meßwerten anderer Nachweis-
methoden

Die gefundenen Thalliumwerte konnten mit den Ergebnissen einer parallel laufenden, photometrischen Analyse sowie mit den, vom gerichtsmedizinischen Institut polarographisch gemessenen Werten, verglichen werden (Tabelle 11).

Tabelle 11: Vergleichswerte Thallium in Urin ($\mu\text{g/ml}$)
gemessen mittels Atom-Absorption-Spektroskopie, photometrisch und polarographisch

	Probe v.2. Tag	Probe v.3. Tag
AAS:	4,30 $\mu\text{g/ml}$	3,05 $\mu\text{g/ml}$
Photometr.:	4,20 $\mu\text{g/ml}$	3,00 $\mu\text{g/ml}$
Polarograph.:	3,80 $\mu\text{g/ml}$	3,40 $\mu\text{g/ml}$

Von den Urinproben vom 1. Tag standen keine Meßwerte zum Vergleich zur Verfügung.

Die gefundenen Konzentrationen stimmen gut mit den Werten der photometrischen und polarographischen Messungen überein.

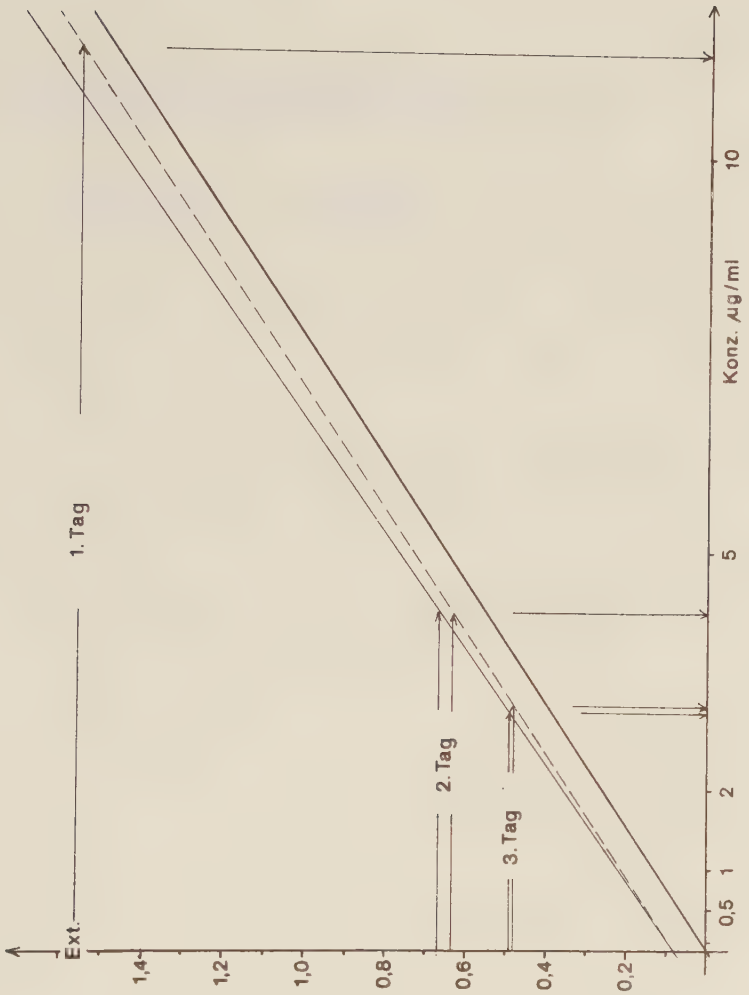


Abb.9.

Bestimmung der Tl-Konzentrationswerte eines
Vergiftungsfalles mittels der erstellten
Eichkurven

VII. Überprüfung der Bestimmungsmethode nach C.D.WALL
auf Fe III Querempfindlichkeit

Die normale Eisenausscheidung im Urin wird mit
0,06 - 0,1 mg/24 Stunden angegeben (GELDMACHER -
von MALLINCKRODT 1976).

Daraus läßt sich bei einer durchschnittlichen Tages-
urinmenge von 1,5 l eine normale Fe - Konzentration
von 0,05 µg/ml errechnen.

Verschiedene Erkrankungen gehen mit einer erhöhten
Eisenausscheidung im Urin einher, weshalb bei der
Thalliumbestimmung die durch Fe III verursachten
Störeinflüsse berücksichtigt werden müssen.

a) Zusammenstellung der höchsten Urineisenwerte bei
verschiedenen Erkrankungen nach HÖCHERL (1975):

Diagnose:	Urineisen (µg/100 ml)
Schwangerschaftstoxikose	123
Praeklampsie	128
Nephrotisches Syndrom	66,2
Primäre Hämochromatose im Frühstadium	82,6
Aplastische Anämie und Transfusionshäm siderose	200
Pyridoxinsensible Anämie und Häm siderose	133

Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie	266
Paroxysmale Thalassaemia major	160
Sichelzellenanämie	202
Schwere hämolytische Anämie nach Verschluß eines Septumdefektes	600
Hämolytische Anämie nach Implantation einer Aortenklappe	973
Mechanische Hämolyse bei Aortenstenose	204
Eisenvergiftung von Kindern nach Behandlung mit DESFERAL ^R	133-1200

Der Übersichtlichkeit wegen wurden alle angegebenen Werte auf die Konzentration $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ umgerechnet, wobei eine Tagesurinmenge von 1,5 l zugrunde gelegt wurde.

b) Ermittlung der Störeinflüsse durch Fe III - Ionen

Um die Atom-Absorption-Spektroskopie auf Fe III Querempfindlichkeit zu überprüfen, wurden thalliumhaltiger Urin und wässriger Standard mit Fe III in pathologischen Mengen versetzt und die gemessenen Extinktionen mit den Extinktionen der Fe III - freien Proben verglichen (Tabelle 12).

Tabelle 12: Vergleich der Extinktionswerte von thalliumhaltigem Standard und Urin vor und nach der Zugabe von Fe III in unterschiedlichen Konzentrationen

10 µg Tl/10 ml H ₂ O	+ 10 mg Fe III (Fe-Standard)	+ 200 µg Fe III (path. Konz.)
Ext.: 0,116	0,133	0,122
" 0,125	0,126	0,121
" 0,130	0,133	0,125
" 0,122	0,115	0,122
$\bar{E}$: 0,123	0,127	0,123
50 µg Tl/10 ml Urin	+ 10 mg Fe III (Fe-Standard)	+ 10 µg Fe III (path. Konz.)
Ext.: 0,735	0,738	0,735
" 0,742	0,732	0,738
" 0,731	0,737	0,729
" 0,732	0,739	0,733
$\bar{E}$: 0,735	0,737	0,734

Aus der sehr guten Übereinstimmung der Extinktionen, selbst bei höchsten Fe III Konzentrationen (Fe III - Standard), kann man folgern, daß Fe III die Thalliumbestimmung unter den angegebenen Bedingungen und Geräteparametern nicht beeinflußt.

Das negative Ergebnis war zu erwarten, da die der Thalliumresonanzlinie (276,79 nm) am nächsten liegende Fe-Resonanzlinie (271,9 nm) bei Spalt 5 (entspricht 0,27 nm spektrale Spaltbreite) ausgeblendet wird und nicht zur Anzeige kommt.

F. Anhang

Arbeitsvorschrift für den Probenaufschluß im
Veraschungsgerät BÜCHI 445.

Versuchsvorbereitung:

Aufheizen des Salzbadess auf 300° C.

Anschluß an die Wasserstrahlpumpe.

Ausrichten der Glaskolben auf exakt gleiche Höhe,
um gleiche Eintauchtiefe = gleiche Temperatur in
allen Kolben zu erreichen.

Die Eintauchtiefe der Glaskolben in das Bad wird
folgendermaßen eingeteilt:

Eintauchtiefe	0	= 0,5 cm über dem Bad	= Skala 35
	I	= 0,5 cm im Bad	= Skala 25
	II	= 1,0 cm im Bad	= Skala 20
	III	= 1,5 cm im Bad	= Skala 15

Durchführung der Veraschung

Es werden je 25 ml Urin bzw. 5 ml Blut in die Glaskolben gefüllt und dazu je 0,5 ml 96% ige Schwefelsäure pipettiert. Jetzt werden die Glaskolben von unten auf den Schliff des Luftkühlers aufgesetzt und an der Verbindungsstelle mehrmals mit Teflonband umwickelt und mit einer Halteklammer gesichert. Die oberen Austrittsöffnungen der Luftkühler werden mit einem Silikonstopfen verschlossen. Anschließend läßt man die Glaskolben

5 min. bei Skala 35

bei eingeschaltetem Gebläse und steilem Anstellwinkel

der Luftkühler rotieren, um eine starke Schaumentwicklung, die bei sofortigem Eintauchen der Kolben in das Salzbad auftreten würde, zu verhindern. Dann werden die Glaskolben mittels der automatischen Hebevorrichtung angehoben und nach kurzem Abkühlen werden pro Kolben über den jeweiligen Luftkühler 4 ml 65% ige Salpetersäure zugegeben. Jetzt läßt man die Kolben erneut

5 min. bei Skala 35

rotieren. Die getrennte Säurezugabe dient ebenfalls zur Vermeidung einer zu starken Schaumentwicklung in den Kolben. Nun wird die Eintauchtiefe I eingestellt und mit Hilfe der Automatik folgende Eintauch-/ Abkühlungszeiten

3/15 sec. über 15 min.

beibehalten.

In der Folge werden die nachstehenden Eintauch- und Abkühlungszeiten gewählt:

Eintauchtiefe	II	Automatik	5 : 15	30 min.
	II	Automatik	7 : 15	45 min.
	II	Automatik	15 : 15	15 min.

Es liegt nun eine klare, schwach gelbliche Veraschungs-
lösung vor, die jedoch noch Nitrosegase enthält. Zum
Abrauchen dieser Gase wird zunächst der Anstellwinkel
der Kolben flach gestellt und die Temperatur des
Salzbades auf 340°C erhöht, sowie die Eintauchtiefe
III eingestellt. Bis zum Erreichen dieser Temperatur
wird die Einstelllung der Automatik im Verhältnis

15 : 15 belassen.

Im nächsten Schritt werden die Kolben in das Salzbad abgesenkt und der Rotor in Abständen von etwa 30 sec. ein- und ausgeschaltet. Dies wird solange wiederholt bis im Luftkühler keine braunen Dämpfe (Nitrosegase) mehr wahrzunehmen sind.

Die Matrix ist nun fast bis auf die Schwefelsäure eingeeengt und es bleibt eine klare, leicht gelbliche Aufschlußflüssigkeit zurück.

Die letzten Reste der Salpetersäure werden durch Nachgießen von Aqua bidest. entfernt.

Dazu werden die Kolben mittels Hebevorrichtung aus dem Bad gehoben und über die Einfüllstutzen am Luftkühler etwa 5 ml Aqua bidest. nachgefüllt. Dann wird abgesenkt und der sich bildende Wasserdampf durch den Sog der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Dies wird solange wiederholt, bis die Aufschlußflüssigkeit vollständig farblos ist.

Nach kurzem Abkühlen füllt man je 25 ml Aqua bidest. in die Kolben und schaltet den Rotor ein. Dadurch wird der Veraschungsrückstand vollständig gelöst.

Dieser geschlossene Probenaufschluß verhindert, im Gegensatz zur angegebenen offenen Veraschung, ein eventuelles Entweichen des zu untersuchenden Probenmaterials.

Dem zu erwartenden Präzisionsgewinn steht allerdings ein erheblich größerer Zeitaufwand gegenüber.

G. Diskussion

Die von C.D. WALL beschriebene Methode der Atom-Absorption-Spektroskopie, die in dieser Arbeit nachgearbeitet wurde, stellt eine einfache, schnelle und quantitative Methode zur Thalliumbestimmung dar. Bei konstanten Arbeitsbedingungen für die Erstellung der Urineichkurve, sowie konstanten Urin-matrixgrößen, lassen sich Thalliummengen im Urin, die größer als $0,1 \mu\text{g/ml}$ sind mit hoher Präzision bestimmen.

Wird bei der Urinanalyse keine Poolharneichkurve mitgeführt, sondern eine wässrige Thalliumeichkurve verwendet, erhöht sich die untere Nachweisgrenze durch die Matrixeffekte des Urins auf $0,5 \mu\text{g/ml Tl}$.

Bei den durchgeführten Messungen konnte eine Wiederfindungsrate von 94,1 % erreicht werden.

Der Vergleich der Meßergebnisse von veraschtem Urin mit unveraschtem Urin zeigt, daß sich die zeitaufwendige Probenvorbereitung mit nur um durchschnittlich 4,38 % erniedrigten Extinktionswerten auswirkt.

Die durchgeführte Bestimmungsmethode eignet sich deshalb gut zur Schnellbestimmung von erhöhten Thalliumwerten in Urin durch direktes Einsprühen von unveraschtem Urin in die Flamme. Nachteilig wirkt sich hierbei das schnelle Verrußen der Brennerschneide durch unvollständig verbrannte organische Bestandteile aus.

Die Überprüfung der Querempfindlichkeit auf Fe-III-Ionen verlief negativ und weist auf die hohe

Spezifität der Bestimmungsmethode hin.

Als Beispiel für die Leistungsfähigkeit der durchgeführten Meßmethode wurden die Meßergebnisse eines forensischen Falles mit den Ergebnissen eines polarographischen und photometrischen Verfahrens verglichen, wobei sich eine gute Übereinstimmung der Meßwerte ergab.

H. Zusammenfassung

Die toxikologische Bedeutung von Thallium ist vor allem im Zusammenhang mit akuten Vergiftungsfällen zu sehen. Dabei handelt es sich im wesentlichen um die gewollte oder ungewollte orale Aufnahme von Thallium-I-Sulfat, das als Rattenvertilgungsmittel im Handel erhältlich und damit für jedermann leicht zugänglich ist.

Thallium-I-Ionen werden ähnlich wie Kalium-Ionen schnell in den intrazellulären Raum aufgenommen. Aus diesem Grund gibt der Thalliumspiegel im Blut nur ein unscharfes Bild von der aufgenommenen Thalliummenge im Körper wieder. Die höchsten Konzentrationen finden sich in der Niere, die das wichtigste Organ zur Ausscheidung von bestimmten Stoffwechselprodukten und körperfremden Stoffen darstellt.

Das größte Hindernis, das einer routinemäßigen Bestimmung von toxischen Elementen lange Zeit entgegenstand, war der zu große Probenbedarf, die

Notwendigkeit einer aufwendigen Probenvorbereitung und das Fehlen geeigneter Meßgeräte.

Die von C.D. WALL beschriebene Methode der Atom-Absorptions-Spektroskopie erfüllt die gestellten Anforderungen bezüglich Anwendungsbereich, Genauigkeit, Nachweisgrenzen und unaufwendiger Probenvorbereitung in hohem Maße.

Sie eignet sich deshalb sehr gut zur schnellen und leistungsfähigen Durchführung von Analysen zur Thalliumbestimmung.

Literaturverzeichnis

1. DE GALAN, L.
On Sensitivity and Detection Limit with Reference
to Flame Spectrometry
Spectry. Letters 3, 123 (1970)
2. EDIGER, R.D.
Determination of Cadmium in Blood by a
Delves-cup-technique
At. Absorption Newslett. 12, 3 (1973)
3. EGEN, B.
Gewerbliche Thalliumvergiftung
Zbl. Arb.-med. Arb.-schutz 5 (1955)
4. FORSTER, B., D.ROPOHL
Rechtsmedizin
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1979)
5. GEILMANN, W., K.BEYERMANN, K.-H.NEEB und R.NEEB
Thallium, ein regelmäßig vorhandenes Spuren-
element im tierischen und pflanzlichen Organismus
Biochem. Z. 333, 62 (1960)
6. GELDMACHER - von MALLINCKRODT, M.
Einfache Untersuchungen auf Gifte im klinisch-
chemischen Laboratorium
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1976)
7. GORONCY, G., R.BERG
Thallium - Vergiftung
Dtsch. Z. ges. ger. Med. 20, 215 (1933)

8. GRÄFE, G.
Gadamers Lehrbuch der chemischen Toxikologie
und Anleitung zur Ausmittlung der Gifte
Band I/2, 990
Vandenhoeck & Ruprecht Göttingen (1979)
9. HÖCHERL, G.
Pathologische Zustände mit erhöhtem Eisengehalt
in Blut und Urin
Diss. Erlangen (1975)
10. KIEFFER, R., G. JANGG, P. ETTMAYER
Sondermetalle: Metallurgie, Herstellung, Anwendung
Springer Verlag Wien - New York (1971)
11. MACHBERT, G.
Über die renale Thalliumausscheidung beim Menschen
und die Berechnung aufgenommener Mengen
Vortrag auf der 50. Tagung der Deutschen
Gesellschaft für Rechtsmedizin Köln (1971)
12. MÖSCHLIN, S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen
Georg Thieme Verlag Stuttgart - New York (1980)
13. MOCK, B.
Versuche zur kolorimetrischen Bestimmung
geringer Thalliummengen
Med. Diss. Erlangen (1965)
14. MÖLLHOFF, G., G. SCHMIDT, J. BÖSCHE
Thalliumvergiftungen
Arch. Krim. 163, 2 (1979)

15. MUELLER,B.
Thallium
Gerichtliche Medizin Teil 2, S. 807
Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York (1975)
16. NONNENMACHER,G., H.SCHLESER
Quantitative Analyse von Metallen, insbesondere
von Metallspuren, mit Hilfe der Atom-Absorption-
Spektrophotometrie
Fresenius Z. Anal. Chem. 209, 284 (1965)
17. PONSOLD,A.
Lehrbuch der gerichtlichen Medizin
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1967)
18. PROKOP,O., W.GÖHLER
Forensische Medizin
Gustav Fischer Verlag Stuttgart - New York (1976)
19. RAUSCHKE,J.
Thallium
in: Lehrbuch der gerichtlichen Medizin, 3. Aufl.,
Herausgegeben von A. PONSOLD
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1967)
20. RAUSCHKE,J.
Über Art, Entstehung und Spezifität der morpho-
logischen Haarbefunde bei Thalliumvergiftung
Extrait des Acta Med. legal. soc. 3, 103 (1963)
21. SPECHT,W., D.ROHNER
Bestimmung von Thalliumspuren in menschlichen
Haaren mittels Neutronen-Aktivierungsanalyse
Dtsch. Z. ges. ger. Med. 52, 129 (1961/62)

22. WEINIG, E., G. SCHMIDT
Über den Konzentrationsabfall des Thalliums im
Harn bei subletalen Vergiftungen am Menschen
Beitr. ger. Med. 22, 331 (1962)
23. WEINIG, E., P. ZINK
Quantitative massenspektrometrische Bestimmung
des normalen Thalliumgehaltes im menschlichen
Organismus
Arch. Toxikol. 22, 255 (1967)
24. WEINIG, E.
Die polarographische Bestimmung des Thalliums
in Leichenteilen
Dtsch. Z. ges. ger. Med. 38, 199 (1943/44)
25. WIRTH, W., CH. GLOXHUBER
Toxikologie
Thieme Verlag Stuttgart - New York (1981)

DANKSAGUNG:

Besonders herzlich danke ich Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher - v. Mallinckrodt für die Überlassung des Themas, für ihre große Hilfsbereitschaft und die zu jeder Zeit freundlich erteilten Ratschläge.

Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling, Vorstand des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg, danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Lebenslauf

Personalien : Martin Kalteis,
geb. am 10. Februar 1949 in Hindlberg

Familienstand : ledig

Staats -
angehörigkeit : deutsch

Eltern : Martin Kalteis, Landwirt
Katharina Kalteis, geb. Wagensonner

Ausbildung : Volksschule: 1955 - 1963 in Gammelsdorf

Landwirtschaftliche Berufsschule:
1963 - 1966 in Moosburg

Landwirtschaftliche Berufsaufbauschule:
1964 - 1967 in Landshut

Gymnasium: 1967 - 1970 Chiemgau-
Gymnasium Traunstein
Reifeprüfung: 20. Juni 1970

Hochschule: 1970 - 1978 Studium der
Mathematik, Statistik und
Physik an der Universität
München
1978 - 1983 Studium der
Zahnmedizin an der
Universität Erlangen

Approbation als Zahnarzt am 22. August 1983

Druck: Copy Center 2000
Obere Karlstraße 30
8520 Erlangen